

MIKROFILTRASI ISOLAT TEMPE KEDELAI (*Glycine soja* L.) DAN DISTRIBUSI PARTIKELNYA SEBAGAI SUMBER ASAM FOLAT

(*Soybean (Glycine soja L.) Tempe Isolate Microfiltration and its Particle
Distribution as Folic Acid Source*)

Agustine Susilowati, Aspiyanto, M. Ghozali dan Yati Maryati

Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, PUSPIPTEK, Serpong, Indonesia
e-mail: agustine_1408@yahoo.co.id

Naskah diterima 09 Oktober 2017, revisi akhir 18 Mei 2018 dan disetujui untuk diterbitkan 21 Mei 2018

ABSTRAK. Kedelai (*Glycine soja* L.) yang terfermentasi (tempe) oleh *Rhizopus oligosporus*-C₁ berpotensi sebagai isolat protein sumber asam folat alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan karakteristik partikel isolat protein dan komposisinya terutama asam folat dari bubur dan konsentrat bubur tempe. Penelitian dilakukan dengan melumatkan tempe pada rasio 1 bagian tempe dan 4 bagian air, filtrasi lolos 80 mesh dan pemurnian melalui sistem mikrofiltrasi (MF) sel berpengaduk. Perolehan bubur tempe dan konsentrat hasil MF selanjutnya dikeringkan dengan pengering vakum pada suhu 30°C dan tekanan absolut 22 cmHg selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses pelumatan dan filtrasi meningkatkan asam folat, protein terlarut dan N-amino serta menurunkan total solid bubur dan filtrat. Sistem MF mampu memperoleh kembali asam folat, protein terlarut, N-amino dan total solid dalam konsentrat berturut-turut 51,41%; 73%; 74,3% dan 34,26% dibandingkan konsentrasi komponen-komponen dalam retentat dan permeat. Proses pengeringan konsentrat hasil MF menghasilkan bubuk dengan ukuran partikel lebih kecil, warna lebih cerah dan tingkat kehalusan lebih merata dengan partikel berukuran Ø 0,4-100 µm (50,2%) dan sisanya (49,8%) berupa partikel berukuran antara 100-1000 µm dengan komposisi total padatan 95,12%, protein terlarut 0,75 mg/mL, N-amino 14,56 mg/mL dan asam folat 299,66 µg/mL.

Kata kunci: asam folat, konsentrat, mikrofiltrasi (MF), tempe, ukuran partikel.

ABSTRACT. Soybean (*Glycine soja* L.) fermented (tempe) by *Rhizopus oligosporus*-C₁ has potential as protein isolate of natural folic acid source. This study aimed to determine the differences in protein isolate particle characteristics and their composition. The research was done by smearing tempe on the ratio of 1 part tempe and 4 parts water, filtration escaped 80 mesh and purification through microfiltration system (MF) stirred cells. The results showed that MF system was capable of recovering folic acid, soluble protein, N-amino and total solids in consecutive concentrates 51.41; 73; 74.3 and 34.26%. The resulting MF concentrate drying process yielded smaller particle size powder, brighter color and evenly smoothness with Ø 0.4-100 µm (50.2%) while remaining part (49.8%) of particles measuring between 100-1000 µm with a total composition of 95.12% solids, dissolved protein 0.75 mg mL, N-amino 14.56 mg / mL and folic acid 299.66 µg/mL.

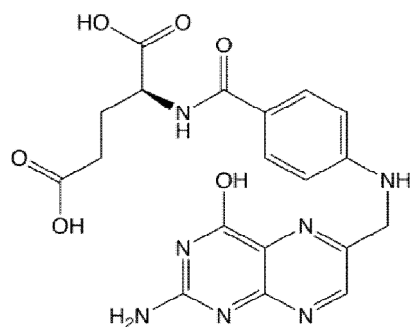
Keywords: concentrate, folic acid, microfiltration (MF), particle size, tempe.

1. PENDAHULUAN

Asam folat (Vitamin B9, Folacin) penting bagi pertumbuhan janin selama dalam kandungan, bayi dan balita. Asam folat sangat berperan dalam mencegah

terjadinya cacat tabung saraf (*Neural Tube Defects/NTDs*) pada bayi yaitu *spina bifida* (kelainan pada tulang belakang) dan *anencephaly* (kelainan dimana otak tidak terbentuk) sehingga penting untuk

pertumbuhan otak janin selama kehamilan (Berry *et al.*, 1999). Resiko timbulnya NTDs pada bayi dapat diturunkan hingga 80% dengan asupan asam folat yang cukup pada masa sebelum dan selama kehamilan yaitu sekitar 0,4-0,8 mg per hari (Berry *et al.*, 1999; Besa *et al.*, 1992). Hal ini tidak terlepas dari struktur kimia asam folat yang terdiri dari gabungan pteridin heterosiklik, asam para-aminobenzoat (PABA) dan asam glutamat (McKenzie, 1996) dimana asam glutamat berperan dalam pengembangan neurotransmisi otak dalam hal memori (Hermes *et al.*, 1996).



Gambar 1. Struktur Asam Folat

Asam folat ((2*S*)-2-[(4-[(2-amino-4-hydroxypteridin-6-yl) methyl]amino)phenyl]formamido]pentanedioic acid atau *N*-(4-[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl) methyl]amino)benzoyl)-*L*-glutamic acid; pteroyl-*L*-glutamic acid; Vitamin B₉; Vitamin M; *Folacin* (C₁₉H₁₉N₇O₆) berupa bubuk kristal berwarna oranye kekuning-kuningan. Gambar 1 menunjukkan struktur asam folat. Senyawa ini memiliki titik lebur 250°C, kelarutan dalam air 0,0016 mg/mL (25°C), keasaman (pKa)₁ : 2,3 ; pKa₂ : 8,3 dan massa molar 441,4 g mol⁻¹ (Belitz *et al.*, 2009).

Isolat protein yang dihasilkan dari kedelai terfermentasi (*Glycine soja* L.) atau tempe kedelai adalah sumber asam folat (Kumari *et al.*, 2014). Tempe kedelai hasil fermentasi kedelai menggunakan inokulum *Rhizopus oligosporus* C₁ selama 48 jam, suhu 30°C, dengan konsentrasi inokulum *Rhizopus oligosporus* C₁ 0,2% b/b berpotensi sebagai fortifikan asam folat alami (Susilowati *et al.*, 2017). Asam folat

sensitif terhadap oksigen, cahaya dan suhu tinggi (Delchier *et al.*, 2014.) sehingga metode proses yang aman dan terkendali diperlukan untuk memperoleh konsentrat berupa bubuk (*powder*) tempe dimana jumlah asam folat yang hilang adalah minimal.

Asam folat pada tempe terbentuk oleh aktifitas proteolitik kapang *Rhizopus oligosporus* C₁ dalam menghidrolisis protein kedelai membentuk asam glutamat yang menjadi bagian dari asam folat selain dari pteridin heterosiklik dan para-aminobenzoat (PABA) (McKenzie, 1996). Penggunaan *Rhizopus oligosporus* C₁ sebagai inokulum tempe didasarkan atas ketertunggallannya sehingga tidak bersaing dalam menghasilkan aktifitas protease tinggi seperti halnya bila menggunakan inokulum campuran yang terdiri dari *R. oligosporus*, *R. stolonifer*, *R. oryzae* dan *Rhizopus* sp lainnya dengan rasio tertentu (Mulyati *et al.*, 2002).

Sistem *crusher* (pelumatan) dilakukan dengan menambahkan air pada rasio tertentu untuk mengecilkan ukuran partikel dan memperluas tegangan permukaan partikel serta untuk memperoleh konsentrat tempe dengan konsentrasi asam folat optimum. Proses pengecilan ukuran (*size reduction*) dilakukan dengan menggunakan gaya mekanik atau menekan (Grandison and Lewis, 1996) untuk memudahkan ekstraksi protein sehingga diperoleh isolat protein yang dapat dikeringkan maupun sebagai konsentrat/pekatan (*liquid*).

Upaya untuk memperoleh partikel tempe yang lebih kecil dapat dilakukan dengan memisahkan suspensi tempe melalui mikrofiltrasi menggunakan membran mikrofiltrasi 0,15 µm. Membran mikrofiltrasi (MF) merupakan membran simetris yang memiliki ukuran dan kerapatan pori-pori seragam (0,1-10 µm) dengan ketebalan berkisar 10-12 µm. Membran MF juga diketahui mampu memisahkan makromolekul >500.000 g/mol (partikel berukuran 0,1-10 µm) pada tekanan 0,5-5 atm (Kotsanopoulos and Arvanitoyannis, 2015; Marzban *et al.*, 2016). Spesifikasi ini kemungkinan tepat untuk suspensi tempe yang terdiri dari

asam-asam amino dengan ukuran partikel berkisar antara 0,008-0,1 μm (Roibilad, 2010). Asam folat diharapkan akan terjerat pada permukaan membran (*retentate*) karena terjadi *fouling* sehingga hanya sebagian yang lolos pada permeat. Partikel tempe dengan ukuran yang lebih kecil memungkinkan asam folat lebih mudah diserap pada sistem pencernaan dibandingkan dengan ukuran partikel yang lebih besar. Penggunaan PSA (*Particle Size Analyzer*) melalui *Coulter LS 100* memungkinkan diketahuinya distribusi ukuran partikel (Beuselink *et al.*, 1998) sehingga dapat diperkirakan besar penyerapan oleh tubuh.

Proses pengeringan konsentrat dengan dan tanpa mikrofiltrasi menggunakan pengering vakum memungkinkan terjadinya perbedaan karakteristik partikel tempe pada distribusinya. Proses pengeringan dilakukan untuk memperoleh bubuk yang memiliki masa simpan lebih lama dibandingkan dengan produk cair. Penggunaan pengering vakum memungkinkan kehilangan asam folat lebih sedikit dibandingkan dengan pengering kabinet (Mujumdar, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi keseluruhan komponen tempe terutama asam folat dan distribusi partikel serbuk isolat tempe hasil mikrofiltrasi tempe dengan pembandingan bubuk tempe sebagai sumber asam folat. Sistem mikrofiltrasi sel berpengaduk akan memisahkan komponen-komponen tempe terutama asam folat (menggunakan metode spektrofotometri UV-VIS) (Ruengsitagoon & Hattanat, 2012), N-amino (menggunakan metode Cu) (Pope & Stevens, 1939), total padatan (metode Gravimetri) dan protein terlarut (spektrofotometri UV-VIS) (AOAC, 2016) berdasarkan ukuran partikel yang dipengaruhi jenis bahan (umpan) dan kinerja membran. Rangkaian proses diperkirakan akan berpengaruh pada distribusi dan ukuran partikel kedua suspensi (Backman, 2018).

2. METODE PENELITIAN

Bahan utama dalam penelitian ini adalah kedelai lokal (*Glycine soja* L) dan beras dari pasar setempat, kultur *Rhizopus oligosporus* strain- C_1 dari Pusat Penelitian Kimia-LIPI, Na_2CO_3 , NaOH , CuSO_4 , K-Na Tartrat, pereaksi *Folin Ciocalteu*, asam sulfat pekat, fenol, pereaksi Nelson A dan B, pereaksi arsenomolibdat, aseton teknis, n-Heksana, HCl , natrium nitrit, asam sulfamat, 3-aminofenol, etil asetat, metanol dan standar asam folat masing-masing pro analisa (p.a) dari Merck, membran mikrofiltrasi 0,15 μm (*Fluoro polymer*, FSM-0.15-PP, Alfa Laval, Denmark). Peralatan proses yang digunakan adalah peralatan mikrobiologi meliputi sistem *laminar air flow* (Esco, USA), *autoclave* (CHENG YI, LS – 50 L, Cina), *shaker* (Braun, USA), inkubator (Mettler, USA), lemari fermentasi (Astro, lokal). Sistem membran dan pengeringan meliputi blender (Sanken, lokal), *homogenizer* (Ultra Turax, Ika Labortechnik, T 50, Jane & Kunkel, Jerman), ayakan 80 mesh (Retsch, Jerman), mikrofiltrasi sel berpengaduk (Amicon, model 8200, MILLIPORE, USA), *stop watch* (Hanhart Profil 2, Jerman), *pressure gauge* untuk gas nitrogen (Fisher Scientific Company, Inggris), tangki nitrogen teknis (lokal), *magnetic stirrer* (HI 303 N, HANNA Instrument, Jepang), pengering vakum (Vacutherm, Heraeus Type VT 6060 P, Kendro Laboratory Product, Jerman), *grinder* (Formac, lokal). Instrument analisis utama adalah spektrofotometer UV (Model RF-550, Shimadzu, Jepang) dan *Particle Size Analyzer* (PSA) (Becman Coulter LS 100, USA).

Pembuatan bubuk inokulum tempe *R. oligosporus* C_1 dan fermentasi kedelai (tempe)

Pembuatan inokulum tempe dilakukan melalui pencucian beras (250 gram), penambahan 250 mL air, sterilisasi pada suhu 121°C, 15 menit, pendinginan, inokulasi dengan isolat *Rhizopus oligosporus* C_1 (6%, b/b), inkubasi pada suhu 30°C, selama 48 jam, pengeringan pada suhu 50°C, 24 jam, penghalusan sehingga diperoleh bubuk inokulum.

Proses pembuatan tempe dimulai dengan pencucian 500 gram kacang kedelai lalu direbus selama 30-45 menit, didinginkan kemudian direndam dalam air rebusan (pH 5) selama satu malam. Kedelai kemudian dikupas, dicuci bersih dan ditiriskan untuk selanjutnya diinokulasi dengan inokulum *Rhizopus oligosporus* C₁ 0,2% (b/b). Langkah berikutnya, kedelai dibungkus dalam plastik berlubang dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

Proses pelumatan, pemurnian dan pengeringan isolat protein tempe

Tempe (250 gram) dilumatkan dengan air (250 mL), perolehan bubur tempe sebagian dikeringkan pada suhu 30°C, tekanan absolut (22 cmHg) selama 24 jam, sebagian lain di filtrasi lolos 100 mesh. Filtrat ditambahkan 250 mL air sehingga umpan (*feed*) terdapat pada rasio 1:2. Selanjutnya filtrat dilewatkan pada sistem mikrofiltrasi sel berpengaduk menggunakan membran mikrofiltrasi 0,15 µm pada kecepatan putar 400 rpm, tekanan 40 psia selama 30 menit sehingga diperoleh konsentrat dan permeat (Ghosh, 2003). Perolehan konsentrat tempe selanjutnya dikeringkan menggunakan pengering vakum pada suhu 30 °C dan tekanan absolut (22 cmHg) selama 24 jam.

Analisis Asam Folat

Analisis asam folat dilakukan menggunakan metode spektrofotometri berdasarkan reaksi diazotisasi asam p-aminobenzoylglutamat yang dihasilkan setelah reaksi reduksi asam folat dan 3-aminofenol sehingga membentuk kompleks kuning-oranye. Sebanyak 1 mL standar asam folat atau sampel ditambahkan dengan 1 mL HCl 4M, 1 mL natrium nitrit 1% (b/v), 1 mL asam sulfamat 1% (b/v) dan 1 mL 3-aminofenol 1% (b/v) kemudian divorteks sehingga membentuk kompleks berwarna kuning-oranye. Selanjutnya absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 460 nm (Ruengsitagoon & Hattanat, 2012).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik tempe

Berdasarkan hasil pengamatan, pertumbuhan miselium pada tempe kedelai (*Glycine soja* L.) tampak rata dan kompak pada seluruh permukaan, berwarna putih dengan aroma khas tempe dan tekstur padat sesuai SNI (Badan Standardisasi Nasional, 2009) seperti ditunjukkan pada Gambar 2.



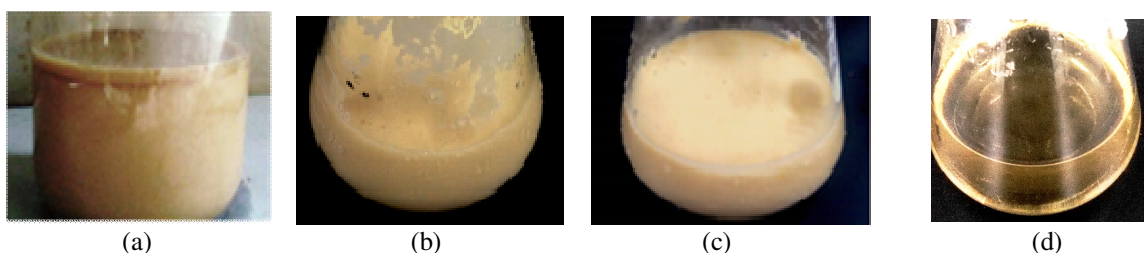
Gambar 2. Tempe kedelai hasil fermentasi menggunakan inokulum *R. oligosporus* strain-C₁.

Komposisinya menunjukkan total padatan, protein terlarut, N-amino dan asam folat berturut-turut sebesar 42,55%; 0,72 mg/mL; 6,72 mg/mL dan 268,33 µg/mL. Komposisi ini lebih baik bila dibandingkan dengan tempe yang sama namun dengan umur simpan yang berbeda berdasarkan penampilan fisik, aroma dan kandungan asam folat (Susilowati, dkk, 2015). Tempe hasil fermentasi oleh *Rhizopus oligosporus* strain C₁ ini memiliki perbedaan dengan tempe pada umumnya yang dihasilkan oleh campuran *Rhizopus* sp dimana miselium lebih lebat dan hampir memenuhi seluruh permukaan kedelai dengan umur fermentasi yang lebih cepat (48 jam) karena difermentasi pada suhu 30°C. Tempe pada umumnya dipanen pada umur simpan lebih dari 48 jam pada suhu ruang (26-28°C). Hal ini berefek pada aroma tempe yang tidak sekuat aroma tempe biasa karena pembentukan asam-amino yang lebih lambat.

Pengaruh proses pelumatan dan pemurnian melalui membran MF sel berpengaduk terhadap komposisi

Proses pelumatan menggunakan blender (sistem *crusher*) pada rasio tempe dan air 1:1 menghasilkan bubur/pasta tempe sebagai suspensi kental dan beraroma khas tempe. Filtrasi lolos 100 mesh yang menghasilkan filtrat tempe merupakan umpan (*feed*) untuk proses pemurnian melalui MF sel berpengaduk yang menghasilkan konsentrat (pekatan)

dan permeat (ekstrak) tempe masing-masing sebagai suspensi kental dan cairan jernih kuning kecoklatan seperti diperlihatkan pada Gambar 3a, 3b, 3c dan 3d. Proses pelumatan menyebabkan ukuran partikel tempe menjadi jauh lebih kecil yang dipengaruhi oleh volume air, sistem *crusher* dan sifat bahan. Tempe kedelai cukup liat karena seluruh permukaannya dipenuhi oleh miselium sehingga dihasilkan suspensi dengan tekstur yang lengket.



Gambar 3. (a) Bubur tempe hasil pelumatan pada rasio 1:1, (b) Umpan tempe kedelai pada rasio 1:2 (c) Retentat/konsentrat tempe kedelai, (d) Permeat /ekstrak tempe kedelai hasil pemurnian isolat tempe kedelai melalui MF Sel berpengaduk.

Terhadap asam folat, proses pelumatan menghasilkan peningkatan asam folat pada bubur (834,3 $\mu\text{g/mL}$) dan filtrat lolos 100 mesh (472,67 $\mu\text{g/mL}$) masing-masing sebesar 211% atau 2,11 x dan 76,15% atau 0,76 x dibandingkan dengan sebelum proses pelumatan (268,33 $\mu\text{g/mL}$) pada tempe kedelai. Hal ini diduga disebabkan oleh asam folat yang mudah larut dalam air (Belitz *et al.*, 2009), sehingga akan lebih banyak larut dalam bubur dan filtrat pada saat penambahan air.

Proses pemurnian menggunakan sistem MF sel berpengaduk melewati membran MF 0,15 μm dengan umpan filtrat tempe lolos 100 mesh. Sistem MF sel berpengaduk mampu menahan asam folat pada konsentrat sebesar 722,44 $\mu\text{g/mL}$ dan meloloskannya sebagai ekstrak tempe sebesar 197 $\mu\text{g/mL}$, dengan kata lain terjadi peningkatan sebesar 52,84% dari umpan sebesar 472,67 $\mu\text{g/mL}$ menjadi konsentrat dengan kandungan asam folat sebesar 722,44 $\mu\text{g/mL}$. Ukuran partikel asam folat diketahui sebanding dengan berat molekulnya (441 Da) atau berada diantara 0,008 – 0,1 μm (Jing Li and Howard, 2010) sehingga akan lebih banyak

lolos pada filtrat dibandingkan dengan yang tertahan pada permukaan penyaring (100 mesh), tetapi saat terjadi *fouling* menyebabkan asam folat terjebak pada komponen-komponen lain sehingga tertahan sebagai konsentrat (Kotsanopoulos and Arvanitoyannis, 2015; Marzban *et al.*, 2016 ; Jing Li and Howard, 2010). Asam folat sangat sensitif terhadap perlakuan mekanis, udara dan cahaya sehingga interaksi setiap perlakuan berpengaruh pada keberadaannya selain dari jenis dan komposisi awal bahan. Sistem mikrofiltrasi ini mampu memperoleh kembali (*recovery*) asam folat dalam konsentrat sebesar 51,41% dibandingkan dengan asam folat dalam total retentat dan permeat (919,44 $\mu\text{g/mL}$).

Proses pelumatan dan filtrasi meningkatkan protein terlarut dan N-amino pada bubur masing-masing sebesar 157% atau 1,5 x dan 75% atau 0,75 x dari protein terlarut dan N-amino masing-masing 0,33 dan 1,68 mg/mL menjadi 0,85 dan 2,94 mg/mL. Pada filtrat lolos 100 mesh meningkatkan kedua komponen tersebut masing-masing sebesar 160% atau 1,6x dan 133% atau 1,33x dari 0,86 dan 3,92

mg/mL dibandingkan dengan protein terlarut (0.33 mg/mL) dan N-amino (1.68 mg/mL) awal bahan (tempe). Hal ini menunjukkan bahwa proses pelumatan pada rasio 1:1 mampu meningkatkan protein terlarut dalam bubur maupun filtrat tempe lolos 100 mesh. Peningkatan ini kemungkinan disebabkan oleh protein terlarut dan N-amino lebih mudah larut dalam air seperti pada umumnya protein (Belitz *et al.*, 2009).

Sistem MF sel berpengaduk mampu menahan protein terlarut dan N-amino pada konsentrat masing-masing sebesar 0,84 dan 3,64 mg/mL dan meloloskannya sebagai ekstrak tempe masing-masing sebesar 0,31 dan 1,26 mg/mL pada proses pemurnian menggunakan sistem MF sel berpengaduk. Jika dibandingkan dengan protein terlarut dan N-amino dalam total retentat dan permeat masing-masing 1,15 dan 4,9 mg/mL, sistem mikrofiltrasi ini mampu memperoleh kembali protein terlarut dan N-amino dalam konsentrat masing-masing sebesar 73 dan 74,3%. Proses ini menurunkan total solid pada bubur (23,13%) dan filtrat lolos 100 mesh

(22,7%) masing-masing sebesar 45% dan 46,65% dibandingkan dengan sebelum proses pelumatan (42,55%) pada tempe kedelai. Hal tersebut selain disebabkan oleh proses pelarutan, juga karena banyaknya komponen yang larut dalam air. Total solid adalah akumulasi seluruh komponen baik terlarut maupun tak terlarut. Dibandingkan dengan total solid dalam total retentat dan permeat (45,83%), sistem mikrofiltrasi ini mampu memperoleh kembali total solid dalam konsentrat sebesar 34,26% atau dengan kata lain seluruh rangkaian proses menurunkan total solid konsentrat tempe.

Pengaruh proses pengeringan terhadap karakteristik isolat protein tempe

Proses pengeringan menggunakan pengering vakum pada suhu 30°C dan tekanan 22 cmHg selama 24 jam menghasilkan bubuk bubur tempe dan bubuk konsentrat tempe dengan karakteristik yang berbeda baik secara fisik, ukuran partikel dan komposisinya seperti ditunjukkan pada Gambar 4a dan 4b.



Gambar 4. (a) Bubuk dari bubur tempe kedelai dan (b) Bubuk dari konsentrat tempe kedelai.

Bubuk dari konsentrat hasil mikrofiltrasi lebih halus dengan ukuran partikel yang seragam dan warna yang lebih terang dibandingkan dengan bubuk tempe tanpa proses mikrofiltrasi. Perbedaan warna, tingkat kehalusan dan keseragaman ukuran partikel ini dimungkinkan karena sistem mikrofiltrasi mampu memisahkan partikel tempe dimana partikel yang berukuran lebih besar dari 0,15 μm akan tertahan pada permukaan membran dan pigmen warna akan larut bersama permeat. Bubuk bubur tempe tanpa mikrofiltrasi akan mengakumulasi seluruh komponen tempe

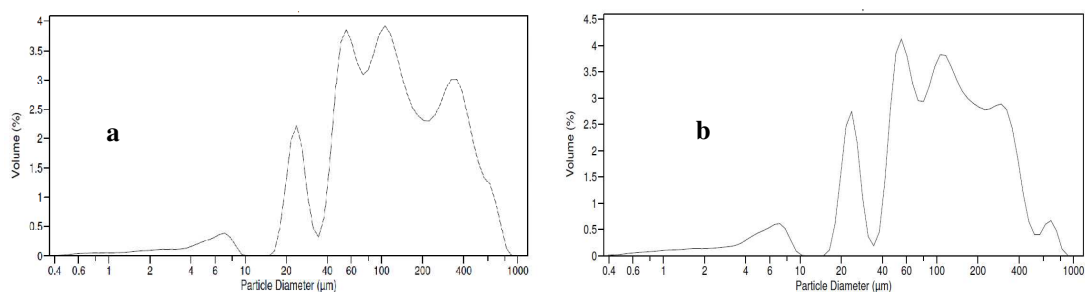
sehingga secara keseluruhan bubuk tampak kasar dengan warna yang lebih gelap dan ukuran partikel tidak seragam. Proses pengeringan bubuk tempe menghasilkan distribusi partikel seperti ditunjukkan pada Gambar 5a.

Distribusi partikel bubuk bubur tempe memperlihatkan partikel dengan ukuran ϕ antara 0,4-0,8 μm atau $<1 \mu\text{m}$ terdapat sebesar 0,44%. Partikel dengan $\phi <10 \mu\text{m}$ atau antara 0,4-10 μm sebesar 6,99%, partikel dengan $\phi <100 \mu\text{m}$ atau antara 0,4-100 μm sebesar 46,3% dan partikel dengan $\phi <1000 \mu\text{m}$ atau antara 0,4-1000 μm sebesar 100% dari 100%

volume bahan. Distribusi partikel bubuk bubur tempe secara keseluruhan menunjukkan bahwa 46,3% terdiri dari partikel berukuran 0,4-100 μm dan sisanya (53,7%) adalah partikel berukuran >100-1000 μm . Hal tersebut mengindikasikan dominasi oleh partikel berukuran <1000 μm atau partikel berukuran 0,4-1000 μm .

Perbedaan ukuran partikel kemungkinan disebabkan sistem pelumatan (1:1) yang dilakukan dalam waktu singkat (<5 menit). Hal ini menyebabkan pemecahan partikel tempe kurang optimal. Hasil distribusi partikel pada bubuk konsentrat tempe dari

mikrofiltrasi pada Gambar 5b memperlihatkan partikel isolat tempe kedelai dengan \emptyset antara 0,4-0,8 μm atau <1 μm terdapat sebesar 0,59%, partikel dengan \emptyset <10 μm atau antara 0,4-10 μm sebesar 4,25%, partikel dengan \emptyset <100 μm atau antara 0,4-100 μm sebesar 50,2% dan partikel dengan \emptyset <1000 μm atau antara 0,4-1000 μm sebesar 100% dari 100% volume bahan. Berdasarkan hasil tersebut, bubuk didominasi oleh partikel berukuran <1000 μm atau 50,2% bubuk terdiri dari partikel berukuran 0,4-100 μm dan sisanya (49,8%) adalah partikel berukuran >100-1000 μm .



Gambar 5. Distribusi partikel (a) bubuk tempe dari bubur tempe hasil pelumatan tempe dan air pada rasio 1:1 dan (b) bubuk tempe dari konsentrat hasil pemurnian melalui MF Sel berpengaduk.

Tabel 1. Komposisi tempe, bubur tempe, filtrat lolos 100 mesh (umpan) untuk pemisahan melalui mikrofiltrasi sel berpengaduk dan pengeringan dalam perolehan isolat tempe kedelai sebagai sumber asam folat alami

Jenis bahan	Komposisi			
	Total padatan (%)	Protein terlarut (mg/mL)	N-amino (mg/mL)	Asam Folat ($\mu\text{g/mL}$)
Tempe*	42,55	0,33	1,68	268,33
Bubur tempe**	23,13	0,85	2,94	834,3
Filtrat lolos 100 mesh (umpan)	22,70	0,86	3,92	472,67
Konsentrat tempe ***	15,70	0,84	3,64	722,44
Ekstrak***	1,39	0,31	1,26	19
Bubuk bubur tempe****	94,64	0,78	11,2	761,85
Bubuk konsentrat tempe****	95,12	0,75	14,56	299,66

Keterangan: *) hasil fermentasi 48 jam, suhu 30°C, 48 jam; **) hasil pelumatan pada rasio tempe:air 1:1; ***) hasil pemurnian melalui MF Sel berpengaduk; ****) hasil pengeringan (vakum).

Proses pengeringan secara keseluruhan menurunkan konsentrasi asam folat baik dari bubur tempe maupun konsentrat hasil mikrofiltrasi. Karakteristik produk isolat menunjukkan bahwa asam folat bubuk dari bubur tempe (761,85 µg/mL), lebih tinggi dibandingkan bubuk dari konsentrat hasil mikrofiltrasi (299,66 µg/mL). Perbedaan ini selain disebabkan oleh konsentrasi asam folat pada awal bahan (bubur dan konsentrat) juga oleh sistem pengeringan. Konsentrat dengan ukuran partikel yang lebih kecil (0,4-1000 µm sebesar 50,2%) dan total solid yang lebih rendah (15,7%) menyebabkan tegangan permukaan lebih luas sehingga penguapan akan lebih merata dan energi panas akan lebih cepat tercapai dibandingkan dengan bubur tempe. Total solid yang lebih besar (23,13%) dengan ukuran Ø partikel yang lebih besar (0,4-1000 µm sebesar 53,7%) menyebabkan panas akan lebih lambat tercapai dibandingkan dengan konsentrat dengan waktu pengeringan yang sama (24 jam). Proses pengeringan menurunkan asam folat pada ke dua jenis bahan. Hal ini menunjukkan bahwa kehilangan asam folat pada produk akhir berupa konsentrat lebih minimal. Tabel 1 memperlihatkan keseluruhan karakteristik bahan dari masing-masing proses.

4. KESIMPULAN

Proses pelumatan dan filtrasi lolos 100 mesh meningkatkan asam folat, protein terlarut dan N-amino pada bubur dan filtrat masing-masing sebesar 2,11 kali dan 0,76 kali; 1,5 kali dan 0,75 kali; 1,6 kali dan 1,33 kali, namun menurunkan total solid masing-masing sebesar 0,45 kali dan 0,47 kali dibandingkan dengan sebelum proses pelumatan. Sistem mikrofiltrasi mampu memperoleh kembali (*recovery*) asam folat, protein terlarut, N-amino dan total solid dalam konsentrat berturut-turut sebesar 51,41%, 73%, 74,3% dan 34,26% dibandingkan konsentrasi komponen-komponen tersebut dalam retentat dan permeat. Proses pengeringan konsentrat menghasilkan bubuk dengan warna cerah, tingkat kehalusan merata, ukuran partikel dengan Ø 0,4-100 µm

(50,2%) dan sisanya (49,8%) adalah partikel berukuran >100-1000 µm dibandingkan dengan bubuk dari bubur tempe (46,3% v) dan sisanya (49,8%) adalah partikel berukuran >100-1000 µm. Bubuk konsentrat tempe lebih berpotensi sebagai fortifikan sumber asam folat alami. Berdasarkan distribusi partikel dengan ukuran Ø partikel terbaik, bubuk konsentrat tempe hasil mikrofiltrasi lebih berpotensi sebagai fortifikan sumber asam folat alami dengan komposisi total padatan 95,12%, protein terlarut 0,75 mg/mL, N-amino 14,56 mg/mL dan asam folat 299,66 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Kemenristekdikti melalui Program Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional (INSINAS) tahun 2018, atas dukungan penelitian ini pada Program INSINAS Riset Pratama Individu pada Bidang Riset Pengembangan Pangan Fungsional Berbasis Sumberdaya Lokal.

DAFTAR PUSTAKA

- A.S. Grandison and J. Lewis. (1996). *Separation processes in the food and biotechnology industries: Principles and applications*. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Company Inc.
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis*. Washington D. C: Association of Official Analytical Chemistry.
- Backman. (2018). *Laser diffraction measurement for non spherical particles*. Indianapolis: Backman.
- Badan Standarisasi Nasional. (2009). *SN 3144:2009 Tempe Kedelai*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Belitz, H. D., Grosch, W. and Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry, 4th. revised and extended edition*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Berry, JR, Li Z, Erickson JD, LiS, Moore CA, Wang H. (1999). Prevention of neural tube defects with folic acid in China. *N. Engl. J Med*, 1999 (341), 1485-1490.
- Besa, EC, Catalono PM, Kant JA, Jerreies LC. (1992). Anemia associated with DNA

- synthesis. Dalam : *Hematologi . Edisi ke-1* (h.79-93). Baltimore: William & Wilkins.
- Beuselink, L., Govers, G., Poesen, J., Degraer, G., Froyen, L. (1998). Grain-size analysis by laser diffractometry: comparison with the sieve-pipette method. *Journal ELSEVIER Catena*, 32, 193-208.
- Delchier, N., Ringling, C., Maingonnat, J. F., Rychlik, M., Renard, C. M. G. C. (2014). Mechanisms of folate losses during processing: diffusion vs heat degradation. *Food Chem* (157), 439 – 47
- Ghosh, R. (2003). *Protein Bioseparation using Ultrafiltration. Theory, Applications and New Developments*. London : Imperial College Press.
- Hermes ML, Coderre EM, Buijs RM, Renaud LP. (1996). GABA and glutamate mediate rapid neurotransmission from suprachiasmatic nucleus to hypothalamic paraventricular nucleus in rat. *J Physiol*, 496(3), 749–757.
- Jing Li and Howard A. Chase. (2010). Applications of membrane techniques for purification of natural products : Review. *Biotechnol Lett*, 2010(32), 601–608. DOI 10.1007/s10529-009-0199-7
- Kotsanopoulos, K. V. and Arvanitoyannis, I. S. (2015). Membrane Processing Technology in the Food Industry: Food Processing, Wastewater Treatment, and Effects on Physical, Microbiological, Organoleptic, and Nutritional Properties of Foods. *Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(9), 1147. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.685992>.
- Kumari, V. V., Hoekenga, O., Salini, K., and Chandran, M. A. S. (2014). Biofortification of Food Crops in India : An Agricultural Perspective. *ASIAN Biotechnology and Development Review*, 16(2), 21-41.
- Marzban, R., Saberi, F. and Shirazi, M. M. A. (2016). Microfiltration and Ultrafiltration of *Bacillus thuringiensis* Fermentation Broth : Membrane Performance and Spore-Crystal Recovery Approaches. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 33(4). <http://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20160334s20140215>.
- McKenzie, SB. (1996). *Megaloblastic and nonmegaloblastic macrocytic anemias*. Dalam: *Textbook of Hematology, edisi ke-2* (h. 179-99). Baltimore, Williams & Wilkins.
- Mujumdar, A.S. (2008). *Industrial Drying Principles, Equipments and New Development*. Mumbai: Colour Publications Pvt. Limited.
- Mulyati. Y. I, S.P. Raharti, dan Thelma A.B. (2002). Pembuatan inokulum menggunakan isolat *Rhizopus* C1 dan *Rhizopus* C2 pada substrat campuran. *Prosiding Seminar Nasional Tantangan Penelitian Kimia dalam Era Biologi dan Super Informasi* (pp. 140-150). Serpong: Pusat Penelitian Kimia LIPI.
- Pope, C.G and Steven, M.F. (1939), The Determination of amino nitrogen using a copper method. *Bio chem. J*, 333,1000 - 1077.
- Roibilad (2010, Juli 22). *Teknologi Membran untuk Aplikasi BRM*, Available from www.wordpress.com. Accessed 25 Oktober 2016.
- Ruengsitagoon, W., & Hattanat, N. (2012). *Simple spectrophotometric method for determination of folic acid*. In *The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of "Pharmacy Profession in Harmony*, (281). Khon Kaen: Khon Kaen University.
- Susilowati, A., Aspiyanto, Melanie, H., Maryati. (2017). *Pengembangan Konsentrat Sayuran Hijau dan Kacang-kacangan Terfermentasi pada jagung (Zea mays L.) pramasak sebagai sumber asam Folat untuk formula pangan pintar*. Laporan Hasil Penelitian, Program Tematik, Kedeputan IPT, Tahun Anggaran 2017, Pusat Penelitian Kimia - LIPI, PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang.